

ISSN 1029-8940 (Print)

ISSN 2524-230X (Online)

УДК 57.033;577.218

<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2025-70-4-304-315>

Поступила в редакцию 11.04.2025

Received 11.04.2025

В. С. Мацкевич¹, В. В. Демидчик²

¹Белорусский государственный университет, Минск, Республика Беларусь

²Институт экспериментальной ботаники имени В. Ф. Купревича Национальной академии наук Беларусь, Минск, Республика Беларусь

ИЗМЕНЕНИЕ УРОВНЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ, КОДИРУЮЩИХ СИСТЕМЫ СТРЕССОВОГО ОТВЕТА, В КОРНЯХ *ARABIDOPSIS THALIANA* (L.) HEYNH. ПОД ДЕЙСТВИЕМ ТОКСИЧЕСКИХ УРОВНЕЙ Ni²⁺ В СРЕДЕ И ВЛИЯНИЕ НА НЕГО ЭКЗОГЕННОГО L-ГИСТИДИНА

Аннотация. Никель является для высших растений эссенциальным трэйс-элементом, входящим в состав уреазы, глиоксилаз и ряда гидрогеназ. Однако в высоких концентрациях данный металл подавляет рост и развитие растений. Токсичные для растений уровни Ni²⁺ ($>10^{-5}$ М) характерны для почв, сформированных из вулканических пород, вблизи горнодобывающих и metallургических комбинатов, свалок, мест захоронения отходов. Повышенное содержание уровня никеля в почвах зарегистрировано и на некоторых территориях Беларуси. В представленной работе исследовано воздействие диапазона токсических концентраций Ni²⁺ (0,3–2 ммоль/л NiCl₂) на экспрессию ряда важнейших генов стрессового ответа у модельных растений *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh., а также влияние на этот процесс природного защитного агента растений – L-гистидина (Гис), усиленно синтезируемого растениями при никелевом стрессе и способного связывать Ni²⁺. В ходе проведенных опытов с использованием метода полимеразной цепной реакции в реальном времени (ПЦР-РВ) было обнаружено, что введение Ni²⁺ в культивационную среду вызывало дозозависимое увеличение относительной экспрессии генов, кодирующих глутатионредуктазу (GR1), НАДФН-оксидазу (RBOHC), Ca²⁺-зависимую протеинкиназу (CPK6), каталазу (CAT2) и наружу-выпрямляющий K⁺-канал (GORK1). Максимальное увеличение наблюдалось при обработке 2 ммоль/л Ni²⁺ и составляло 5,9; 5,0; 3,0; 2,8 и 2,2 раза для транскриптов RBOHC, GR1, CPK6, CAT2 и GORK1 соответственно. В случае генов поли(АДФ-рибоза)-полимеразы (PARP1), циклина B2 (CYCB2) и Cu/Zn-супероксиддисмутазы (CSD2) уровень транскриптов возрастал при низких уровнях Ni²⁺, а затем снижался при его более высоких уровнях в среде. Введение Гис совместно с Ni²⁺ предотвращало Ni²⁺-индукционное изменение экспрессии генов. Таким образом, в работе продемонстрировано, что растения *A. thaliana* отвечают на избыток Ni²⁺ индукцией экспрессии ферментативных антиоксидантов, белков редокс- и Ca²⁺-опосредуемой клеточной сигнализации, а также модификацией систем контроля деления и репликации ДНК; данный эффект находится под контролем экзогенного Гис.

Ключевые слова: тяжелые металлы, никель, физиология стресса, L-гистидин, активные формы кислорода, кальциевая сигнализация, редокс-регуляция, экспрессия генов, *Arabidopsis thaliana*

Для цитирования: Мацкевич, В. С. Изменение уровня экспрессии генов, кодирующих системы стрессового ответа, в корнях *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. под действием токсических уровней Ni²⁺ в среде и влияние на него экзогенного L-гистидина / В. С. Мацкевич, Демидчик В. В. // Весці Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Серыя біялагічных навук. – 2025. – Т. 70, № 4. – С. 304–315. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2025-70-4-304-315>

Viera S. Mackievič¹, Vadim V. Demidchik²

¹Belarusian State University, Minsk, Republic of Belarus

²V. F. Kuprevich Institute of Experimental Botany of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

ALTERATIONS IN EXPRESSION OF STRESS-RESPONSIVE GENES IN *ARABIDOPSIS THALIANA* (L.) HEYNH. ROOTS INDUCED BY TOXIC Ni²⁺ LEVELS AND JOINT APPLICATION OF Ni²⁺ AND L-HISTIDINE

Abstract. Nickel (Ni) is an essential trace element for higher plants, being a part of urease, glyoxylases and hydrogenases. However, in high concentrations, this metal exerts a pronounced toxic effect. Levels of Ni²⁺ that are toxic to plants ($>10^{-5}$ M) are typical for soils formed from volcanic rocks, near mining and metallurgical plants, landfills, waste disposal sites. Elevated nickel levels are also recorded in the soils of Belarus. In the presented work, we examined the effect of a range of toxic Ni²⁺ concentrations (0.3–2 mM NiCl₂) on the expression of a number of important stress response genes in model plants *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh., as well as the effect of a natural plant protective agent, L-histidine (His), which is intensively synthesized by plants under nickel stress and is able to bind Ni²⁺, on this process. In the experiments conducted

using the Real-Time Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) method, it was found that the introduction of Ni²⁺ into the culture medium caused a dose-dependent increase in the relative expression of genes encoding glutathione reductase (*GRI*), NADPH oxidase (*RBOHC*), Ca²⁺-dependent protein kinase (*CPK6*), catalase (*CAT2*) and outward-rectifying K⁺ channel (*GORK1*). The maximum increase was observed upon treatment with 2 mM Ni²⁺, relative transcript levels were 5.9, 5.0, 3.0, 2.8 and 2.2 times higher than in control for *RBOHC*, *GRI*, *CPK6*, *CAT2* and *GORK1* respectively. In the case of the genes encoding poly(ADP-ribose)-polymerase (*PARPI*), cyclin B2 (*CYCB2*), and Cu/Zn-superoxide dismutase (*CSD2*), the transcript levels increased at low Ni²⁺ concentrations and then decreased at higher Ni²⁺ concentrations in the medium. The introduction of His, in conjunction with Ni²⁺, prevented the Ni²⁺-induced change in gene expression. Thus, it was demonstrated that *A. thaliana* plants respond to excess Ni²⁺ by inducing the expression of enzymatic antioxidants, proteins involved in redox- and Ca²⁺-mediated cellular signaling. This response is accompanied by alterations in the systems of control cell division and DNA replication, which can be regulated by exogenous His.

Keywords: heavy metals, nickel, stress physiology, L-histidine, reactive oxygen species, calcium signaling, redox regulation, gene expression, *Arabidopsis thaliana*

For citation: Mackievic V. S., Demidchik V. V. Alterations in expression of stress-responsive genes in *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. roots induced by toxic Ni²⁺ levels and joint application of Ni²⁺ and L-histidine. *Vesti Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2025, vol. 70, no. 4, pp. 304–315 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2025-70-4-304-315>

Введение. Загрязнение окружающей среды тяжелыми металлами является одной из важнейших причин снижения продуктивности сельскохозяйственных растений и повреждения дикой флоры [1–3]. Кроме того, токсические металлы, накапливающиеся в растениях, в дальнейшем попадают в пищевые цепи животных и человека. Одним из наиболее опасных тяжелых металлов является никель, содержание которого в почве за последние два десятилетия значительно увеличилось [4]. Данный элемент относится к одним из самых распространенных на Земле, составляя 1,8 % массы нашей планеты и превышая по этому показателю такие элементы, как Ca и Al. Это обуславливает очень высокие концентрации никеля в местах выхода вулканических пород – до нескольких грамм на килограмм сухой почвы (такие почвы называются серпентинными) [5, 6]. Никель также активно добывается (до 2–2,3 млн т в год во всем мире) и используется при производстве нержавеющей стали, цветных сплавов, аккумуляторных батарей, красителей и других продуктов [7]. Это создает дополнительный мощный источник загрязнения биосферы данным металлом.

Для окружающей среды особенно высокую опасность представляют соединения никеля, попадающие в атмосферу с выбросами вулканов, сталеплавильной промышленности, а также утечка ионных форм никеля из городских отходов [5]. В Беларуси средний уровень содержания никеля в почвах составляет около 3,0 мг/кг сухой массы [8]. Однако в некоторых городах (Минск, Борисов, Калинковичи, Полоцк, Гродно, Лида и Светлогорск) содержание никеля превышает предельно допустимую концентрацию (ПДК) и достигает 23–25 мг/кг сухой массы почвы [9–11]. По данным Национальной системы мониторинга окружающей среды, в 2021 г. повышенный уровень никеля (4,4-кратное превышение ориентировочно допустимой концентрации (ОДК)) регистрировался в 27,5 % проб почвы г. Гомеля, в отдельных случаях составляя 88,9 мг/кг сухой массы [12]. В 2022 г. высокое содержание никеля в почвах населенных пунктов (до 2,2 ОДК) было зарегистрировано в г. Гродно, где превышение ОДК фиксировалось в 24,5 % проанализированных проб [11].

Несмотря на то что никель участвует в метаболизме растений, входя в состав уреазы, глиоксилаз и ряда гидрогеназ, его дефицит встречается значительно реже, чем избыточное содержание в почве [13]. В современной физиологии растений никель все чаще рассматривается какnanoэлемент, что отражает незначительную потребность в нем растений [14]. Для большинства видов растений содержание никеля в почве, превышающее 50–100 мг/кг сухой массы, является токсичным [15]. Чрезмерные уровни никеля вызывают сильное ингибирование роста клеток и модифицируют дифференцировку тканей, индуцируют некротические симптомы, подавляют фотосинтез и клеточное дыхание, а также вызывает генотоксические эффекты [16–18]. В качестве механизма токсического влияния никеля на организм растения чаще всего рассматривается подавление работы супероксиддисмутаз, каталаз, оксидаз и пероксидаз, что приводит к истощению пула восстановленного аскорбата и тиол-содержащих антиоксидантов, избыточной продукции активных форм кислорода (АФК) и высокотоксичных терминалльных продуктов окисления

органических молекул [16, 18–20]. Имеются работы, показывающие, что избыток никеля приводит к значительным изменениям в структуре и функционировании цитоскелета и белков веретена деления растительной клетки, что вызывает ошибки при репликации ДНК [21]. Клеточная стенка также является одной из мишенией токсического влияния никеля [22].

Недавно было установлено, что Ni^{2+} при взаимодействии с органическими лигандами, синтезируемыми растением в ответ на избыток этого металла, приобретает повышенную редокс-активность, схожую с ионами железа и меди [18]. Показано, что комплексы Ni^{2+} с L-гистидином (Гис) способны катализировать продукцию гидроксильных радикалов (HO^\bullet), запуская редокс-и Ca^{2+} -зависимые сигнальные явления в корнях *Arabidopsis thaliana* [18]. Предполагается, что таким образом Гис кроме прямой защиты от Ni^{2+} (хелатирования) способствует восприятию Ni^{2+} растительной клеткой, информация о котором транслируется на генетический уровень, включая механизмы защиты и адаптации.

Несмотря на то что имеются работы, указывающие на вовлечение систем редокс-метаболизма и Ca^{2+} -сигнализации, пока остается неясным, как избыток никеля в среде модифицирует активность важнейших генов, участвующих в детоксикации и производстве АФК, восприятии Ca^{2+} -сигналов и повышении устойчивости генетического аппарата. Неизвестно, как влияет на эти процессы природный стресс-протектант – экзогенный Гис. В этой связи целью настоящей работы являлось установление изменений в экспрессии генов, кодирующих системы редокс-метаболизма, Ca^{2+} -опосредуемой сигнализации и регуляции клеточного цикла, в корнях *A. thaliana* под действием токсических уровней Ni^{2+} , а также при совместном воздействии Ni^{2+} и экзогенного Гис. В качестве тестируемых генов были выбраны следующие: *CAT2*, *CPK6*, *CSD2*, *CYCB2*, *GORK1*, *GRI*, *PARP1*, *RBOHC*, являющиеся одними из наиболее реферируемых в работах по проблеме окислительного стресса, токсичности тяжелых металлов, а также редокс-и Ca^{2+} -опосредуемой сигнализации у высших растений (согласно метаанализу данных по публикациям Web of Science за 2024 г.). Объектом исследования служили корни *A. thaliana* – важнейшего модельного вида в биологии растений.

Объекты и методы исследования. Работа проводилась на корнях 10-дневных проростков *A. thaliana* природного экотипа Columbia-0 (Col-0). Семена были получены из Ноттингемского центра семян *Arabidopsis thaliana* (Nottingham *Arabidopsis* Stock Centre, Великобритания). Растения культивировались в стерильных условиях на поверхности среды Мурасиге и Скуга (Duchefa Biochemie, Нидерланды) с добавлением 1 % сахарозы и 0,25 % геллановой камеди (PhytigelTM, Sigma-Aldrich, США), pH 6,0 (КОН), при температуре 22 °C, световом режиме 16 ч свет/8 ч темнота и плотности светового потока 100 мкмоль фотонов $\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$. Введение в среду выращивания никеля ($\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$; AppliChem, Германия, A3917,0100) и Гис (L-histidine; Sigma-Aldrich, H8000) осуществлялось после прорастания семян на 5-е сутки после помещения в ростовые камеры. На 10-е сутки культивирования (5-е сутки после добавления стрессоров) производилось измерение ростовых характеристик молодых растений. Далее корни отрезались при помощи лезвия, отделялись от среды и замораживались в жидком азоте для молекулярно-генетического анализа.

Выделение РНК осуществлялось при помощи набора RNeasy Plant Mini Kit (QIAGEN, Германия) согласно инструкции производителя. Концентрация РНК измерялась на спектрофотометре SmartSpecTM Plus Spectrophotometer (Bio-Rad, США), и 1,5 мкг общей РНК использовалось для синтеза кДНК. Обратная транскрипция проводилась с использованием SuperScriptTM III First-Strand Synthesis System (Invitrogen, США) согласно инструкции производителя. Для ПЦР-РВ применялась система LightCycler® 480 SYBR Green I Master Mix (Roche, Швейцария) с соответствующими праймерами (дизайн и анализ праймеров осуществлялся в онлайн-приложении Primer3web v.4.1.0 (таблица)) и ПЦР-амплификатор LightCycler® 480 Instrument II (Roche). Условия ПЦР-РВ: 95 °C – 5 мин (1 цикл); 95 °C – 10 с, 60 °C – 30 с, 72 °C – 30 с (45 циклов); 95 °C – 30 с, 65 °C – 1 мин, 97 °C – 30 с (1 цикл); 40 °C – 10 мин (1 цикл). Анализ полученных данных производился при помощи LightCycler® 480 Software v.1.5 (Roche). Уровень транскриптов генов рассчитывался при помощи метода $2^{-\Delta\Delta CT}$, нормализация осуществлялась по стандартным референсным генам *ACT2* и *SAND* (таблица). Эксперименты проводились в 5-6 повторах для каждого варианта опыта.

Последовательности праймеров, использованных в работе
Sequences of primers used in the study

Ген (локус)	Последовательности праймеров 5'-3'		Продукт	Источник
<i>ACT2</i> (<i>AT3G18780</i>)	Прямой	CTTGCACCAAGCAGCATGAA	Актин 2	[23]
	Обратный	CCGATCCAGACACTGTACTTCCTT		
<i>SAND</i> (<i>AT2G28390</i>)	Прямой	AACTCTATGCAGCATTGATCCACT	SAND-белок	[23]
	Обратный	TGATTGCATATCTTATGCCATC		
<i>CAT2</i> (<i>AT4G35090</i>)	Прямой	TCCGTTCCCTGTCGAAATTG	Каталаза 2	[24]
	Обратный	AACTCCTCCATGACCGTTGGA		
<i>CPK6</i> (<i>AT2G17290</i>)	Прямой	AGACAACGATGGACGGATTG	Ca ²⁺ -зависимая протеинкиназа 6	[25]
	Обратный	CTCCCTACACCAGCATTTC		
<i>CSD2</i> (<i>AT2G28190</i>)	Прямой	GAGCCTTGTGGTCACGAG	Cu/Zn-супероксиддисмутаза	[24]
	Обратный	CACACCCACATGCCAATCTCC		
<i>CYCB2</i> (<i>AT2G17620</i>)	Прямой	TCAGTTCCAAGTGCTAACGA	Циклин В2	*
	Обратный	TCCTCCATCTCAACTTCTTCC		
<i>GORK1</i> (<i>AT5G37500</i>)	Прямой	GGCTGTGAAAGCAGGACAAG	Наружу-выпрямляющий K ⁺ -канал GORK	*
	Обратный	TCGCCTTAGCAACTGTCGT		
<i>GR1</i> (<i>AT3G24170</i>)	Прямой	CTCAAGTGTGGAGCAACCAAAG	Глутатионредуктаза 1	[24]
	Обратный	ATGCGTCTGGTCACACTGC		
<i>PARPI</i> (<i>AT2G31320</i>)	Прямой	TGCTCTGAAAGAGAAGGAGAG	Поли(АДФ-рибоза)-полимераза	*
	Обратный	TAATCGAGAACCATGCCATAGG		
<i>RBOHC</i> (<i>AT5G51060</i>)	Прямой	TCACCAGAGACTGGCACATAAA	НАДФН-оксидаза типа С	[24]
	Обратный	GATGCTCGACCTGAATGCTC		

П р и м е ч а н и е. * – праймеры сконструированы в настоящей работе.

Для статистической обработки данных применялись стандартные методы вариационной статистики. Основными статистическими характеристиками служили средняя арифметическая величина (X), среднее квадратичное отклонение (σ) и ошибка средней величины (Sx). Средние значения сравнивались между группами с использованием t-критерия Стьюдента и одностороннего дисперсионного анализа (ANOVA), а значимость различий рассматривалась при $p < 0,05$. Расчеты производились в MS Excel 2016 и SigmaPlot 10.0 (StatSoft, США).

Результаты и их обсуждение. Важнейшим физиологическим процессом растения, ингибируемым тяжелыми металлами, является рост растяжением, в частности, весьма чувствительным является удлинение корня. Это связано с тем, что большинство высших растений относятся к видам-исключателям, для которых характерно предотвращение входа тяжелых металлов в надземные органы на уровне корня (явление «корневого барьера»), приводящее к накоплению металлов в этом органе и подавлению его роста [13, 26, 27]. В настоящей работе для анализа воздействия никеля на рост корней *A. thaliana* были использованы ранее разработанные в нашей лаборатории ростовые тесты в гелевой среде, отличающиеся высокой степенью стандартизации условий и стабильностью данных (рис. 1). Было показано, что статистически достоверное ингибирование роста главного корня модельных растений *A. thaliana* наблюдалось при 0,3 ммоль/л Ni²⁺, а полумаксимальное угнетение роста – при приблизительно 2,6 ммоль/л (оценка проводилась при помощи SigmaPlot 10.0). При 0,3 ммоль/л Ni²⁺ ингибирование составляло 10–12 % ($p < 0,001$), при 0,6 ммоль/л – 20–25 %, при 1 ммоль/л – 30–40 %, при 2 ммоль/л – 45–55 %, при 3 ммоль/л – 50–60 % (рис. 1). Добавление к металлу Гис (лиганда-хелатора Ni²⁺) в соотношении 1 Ni²⁺ : 2 Гис оказывало протекторное влияние, блокируя токсическое действие Ni²⁺ на рост главного корня (рис. 1).

Ингибирование роста, обнаруженное в работе, указывает на то, что использованный концентрационный диапазон никеля (0,3–2 ммоль/л NiCl₂) вызывал угнетение ростовых процессов, т. е.

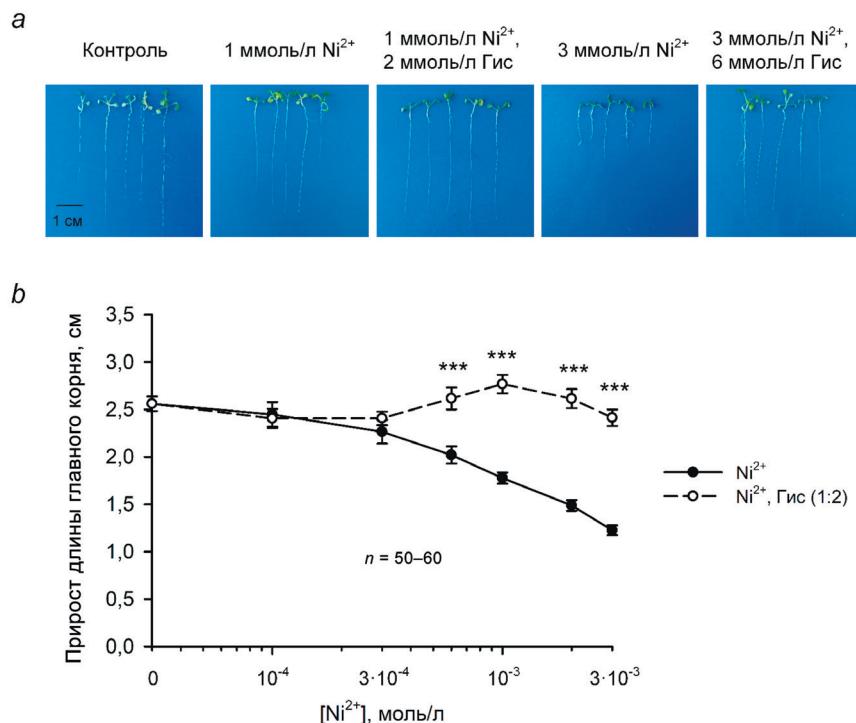


Рис. 1. Эффект Ni²⁺ и Ni-гистидиновых комплексов на рост корней *A. thaliana* (L.) Heynh. экотипа Col-0:
 а – фотографии проростков *A. thaliana*, выращенных в течение 10 сут в контрольных условиях
 и при добавлении различных концентраций Ni²⁺ и Ni-Гис(II) (Ni²⁺, Гис в соотношении 1 : 2);
 б – прирост длины главного корня на 5-е сутки после обработки растений Ni²⁺-содержащими растворами
 ($X \pm S_x$, $n = 50–60$). Достоверность различий рассчитывалась при помощи теста ANOVA между обработкой Ni²⁺
 и Ni-Гис(II): *** – $p < 0,001$

Fig. 1. Effect of Ni²⁺ and Ni-His(II) treatment on root growth in *A. thaliana* (L.) Heynh. ecotype Col-0:
 a – typical ten-day-old seedlings grown in control and in media with Ni²⁺ and Ni-His(II) (Ni²⁺, His in relation of 1 : 2);
 b – mean root length increment after five days from the introduction of Ni²⁺ to the medium ($X \pm SE$, $n = 50–60$).
 Statistics: Ni²⁺ and Ni-His(II) treatments were compared using ANOVA: *** – $p < 0.001$

проявлял выраженную токсичность, не вызывая при этом летального эффекта. Соответственно, данный диапазон концентраций отражал развитие нелетальной (сублетальной) токсичности и подходил для молекулярно-генетического анализа. Как следует из ростовых тестов, введение вместе с Ni²⁺ аминокислоты Гис снижало токсичность данного тяжелого металла. Согласно ранее полученным данным защитное действие Гис не может быть объяснено только хелатированием Ni²⁺, а, вероятно, связано с повышением редокс-активности Ni²⁺ в комплексе Ni-Гис(II), обладающим сигнальными свойствами [18].

Дальнейшие опыты были направлены на изучение влияния протестированных концентраций Ni²⁺ и Ni-Гис(II) на экспрессию генов стрессового ответа (рис. 2, 3). Как уже указывалось ранее, в работе анализировалась экспрессия группы генов, кодирующих белки, ассоциированные с ответом растения на абиотические стресс-факторы (таблица). Как следует из данных, приведенных на рис. 2, с ростом концентрации Ni²⁺ наблюдалось многократное возрастание относительной экспрессии генов глутатионредуктазы (*GR1*), НАДФН-оксидазы (*RBOHC*), Ca²⁺-зависимой протеинкиназы 6 (*CPK6*), катализы 2 (*CAT2*) и K⁺-канала, опосредующего выход K⁺ из растительных клеток (*GORK1*). При росте растений на среде с 2 ммоль/л Ni²⁺ содержание транскриптов *RBOHC*, *GR1*, *CPK6*, *CAT2* и *GORK1* увеличивалось в 5,9; 5,0; 3,0; 2,8 и 2,2 раза соответственно. В случае генов полигАДФ-рибоза)-полимеразы (*PARPI*), циклина B2 (*CYCB2*) и Cu/Zn-супероксиддисмутазы (*CSD2*) уровень транскриптов повышался при низких концентрациях Ni²⁺ и снижался на фоне высоких уровней данного металла. Максимальное увеличение экспрессии *CYCB2* и *CSD2* было отмечено при 0,6 ммоль/л Ni²⁺ (по сравнению с контролем на 69 и 144 % соответственно), а *PARPI* – при 1 ммоль/л Ni²⁺ (по сравнению с контролем на 94 %). На фоне 2 ммоль/л Ni²⁺ экспрессия *CSD2*

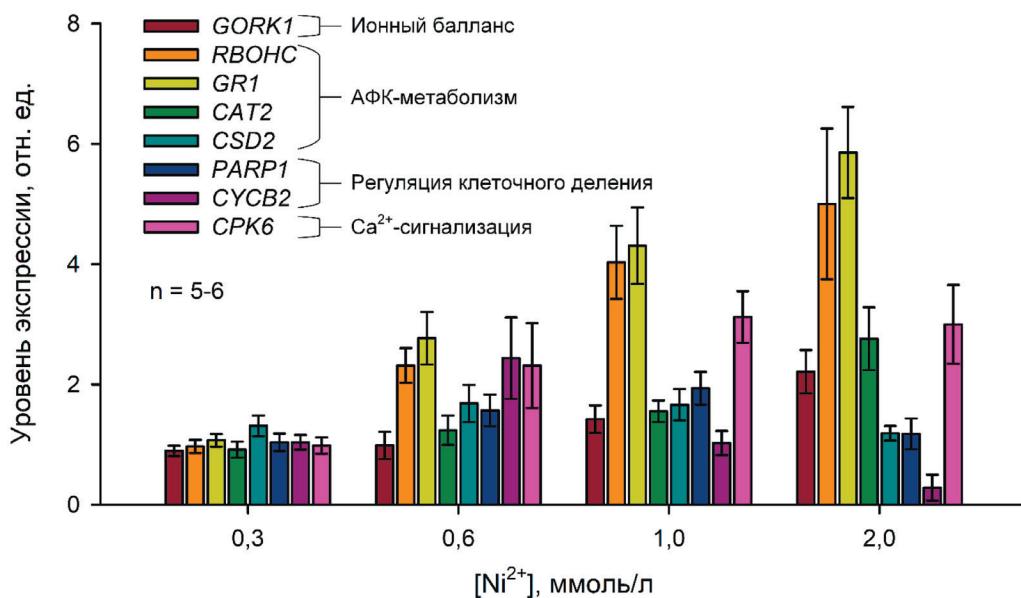


Рис. 2. Изменение относительного содержания транскриптов *CAT2*, *CPK6*, *CSD2*, *CYCB2*, *GORK1*, *GR1*, *PARP1*, *RBOHC* в корнях *A. thaliana* при росте растений на средах с добавлением 0,3–2 ммоль/л Ni^{2+} в течение 5 сут. Значения были нормализованы по референсным генам *ACT2* и *SAND* и соотнесены к контролльному уровню ($X \pm S_x$; $n = 5-6$)

Fig. 2. Changes in the transcript levels of *CAT2*, *CPK6*, *CSD2*, *CYCB2*, *GORK1*, *GR1*, *PARP1*, *RBOHC* in *A. thaliana* roots grown on media containing 0.3–2 mM Ni^{2+} during 5 days. The expression levels were normalized by reference house-keeping genes *ACT2* and *SAND* and related to control ($X \pm SE$; $n = 5-6$)

и *PARP1* была лишь на 20 % выше контроля, а в случае с *CYCB2* уровень экспрессии при данной концентрации Ni^{2+} снижался на 70 % по сравнению со значениями в контрольных условиях (рис. 2).

В отдельной группе опытов было проведено сравнительное исследование воздействия 1 ммоль/л Ni^{2+} и смеси, содержащей 1 ммоль/л Ni^{2+} и 2 ммоль/л Гис (рис. 3). Как уже отмечалось, Гис – хелатор Ni^{2+} , биосинтез которого увеличивается как у обычных, так и Ni -толерантных видов, повышая их устойчивость к данному стрессору [28, 29]. Считается, что протекторное действие Гис развивается благодаря связыванию Ni^{2+} , а также активации АФК- и Ca^{2+} -сигнальных путей, запускающих адаптивные процессы [18]. Проведенные в работе тесты показали, что Гис предотвращал Ni^{2+} -индуцированную экспрессию генов, вовлеченных в АФК-метаболизм, ионный баланс, регуляцию клеточного деления и Ca^{2+} сигнализацию растений (рис. 3). При 1 ммоль/л Ni^{2+} уровень экспрессии *GORK1*, *RBOHC*, *GR1*, *CAT2*, *CSD2*, *PARP1*, *CYCB2*, *CPK6* возрастал в 1,6; 8,3; 4,3; 2,1; 1,6; 1,6; 1,1 и 2,9 раза по сравнению с контролем, а при совместной обработке 1 ммоль/л Ni^{2+} и 2 ммоль/л Гис значения изменений экспрессии снижались до 1,1; 1,5; 1,4; 1,5; 1,3; 1,2; 1,5 и 1,2 раза соответственно (рис. 3). Экспрессия оставалась повышенной, т. е. адаптивные явления, вероятно, запускались, но ее уровень был ниже, чем при воздействии одного лишь Ni^{2+} . Это, скорее всего, поддерживало анаболические и ростовые процессы на высоком уровне, так как подавление роста при добавлении Гис к Ni^{2+} не наблюдалось (рис. 1). Наибольшее снижение экспрессии Ni -индуцируемых генов в присутствии Гис было отмечено для *RBOHC*, *GR1*, *CPK6* и *GORK1* – на 82, 69, 58 и 27 % соответственно. Известно, что данные системы могут быть непосредственно вовлечены в АФК-зависимый стрессовый ответ высших растений [30]. *RBOHC* является ключевым ферментом синтеза АФК в апопласте и редокс-зависимого экспансивного роста клеток растений [31]. Ранее был показано, что нокаутные растения, лишенные *RBOHC*, обладают устойчивостью к высоким уровням никеля [18]. Таким образом, избыточная продукция АФК *RBOHC* может лежать в основе токсичности высоких уровней никеля для высших растений. Ионный канал *GORK1*, уровень экспрессии которого также возрастал при воздействии избытка никеля, ответственен за выход K^+ из растительных клеток и за метаболические K^+ -зависимые перестройки в норме и при стрессе [32]. *CPK6* участвует в Ca^{2+} -зависимой передаче сигналов от абсцизовой

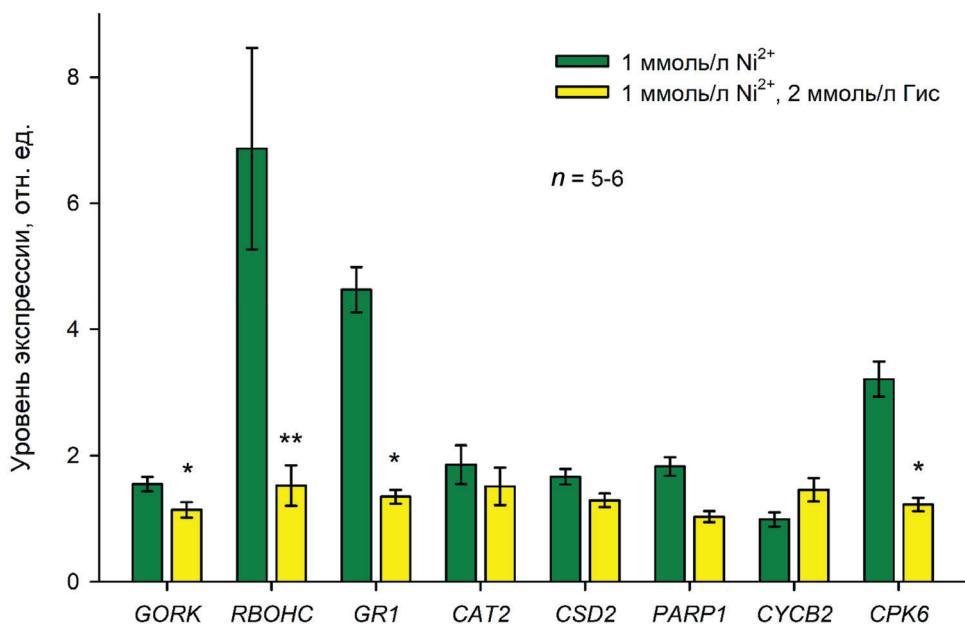


Рис. 3. Изменения относительного содержания транскриптов генов в корнях *A. thaliana*, выращенных на среде с добавлением 1 ммоль/л Ni^{2+} и смеси 1 ммоль/л Ni^{2+} и 2 ммол/л Гис.

Уровни экспрессии были нормализованы по референсным генам *ACT2* и *SAND* и соотнесены к контролю ($X \pm S_x$; $n = 5-6$). Достоверность различий рассчитывалась при помощи теста ANOVA между обработкой Ni^{2+} и Ni -Гис(II): * – $p < 0,050$; ** – $p < 0,01$

Fig. 3. Changes in transcript levels in *A. thaliana* roots grown on the medium, containing 1 mM Ni^{2+} and 1 mM Ni^{2+} , 2 mM His. The expression levels were normalized by reference genes *ACT2* and *SAND* and related to control ($X \pm SE$; $n = 5-6$). Statistics: Ni^{2+} and Ni -His(II) treatments were compared using ANOVA: * – $p < 0.05$, ** – $p < 0.01$

кислоты, жасмоната и прямой регуляции K^+ -каналов внутреннего выпрямления КАТ2 [33], обеспечивая взаимосвязь гормональных, калиевых, метаболических и кальциевых путей сигнализации. GR1 поддерживает уровень ключевого антиоксиданта клеток растений – восстановленного глутатиона, вовлекаясь практически во все явления клеточной редокс-регуляции и репарацию при окислительном повреждении [34]. Несомненно, что за счет снижения экспрессии данных генов биосинтез Гис может способствовать более эффективному поддеражанию АФК- и ионного баланса в компартментах растительной клетки.

Добавление Гис не во всех случаях ингибировало Ni^{2+} -индуцируемую экспрессию генов (рис. 2). Для *CYCB2* было отмечено увеличение экспрессии на 30–35 % по сравнению с обработкой Ni^{2+} без Гис (рис. 2). Циклины В-типа, как правило, контролируют переход от фазы G2 к фазе М клеточного цикла, а также участвуют в митозе, влияя на пролиферативную активность клеток [35]. Ранее отмечалось, что повышенная экспрессия *CYCB2* в меристеме корней высших растений может приводить к ускорению роста корней без увеличения размера клеток, т. е. в результате повышенной пролиферации [35]. Соответственно, введение Гис, вероятно, стимулировало деление клеток корня и одновременно ослабляло их растяжение вследствие подавления индукции *RBOHC*. Такая реакция может способствовать латеральному росту корня и контролю его удлинения, обеспечивая быстрое восстановление поврежденных клеток и формирование защитных тканей.

Проведенные опыты показали, что среди протестированных генов по уровню экспрессии наиболее чувствительными к Ni^{2+} являлись *RBOHC* и *GR1*. Выполненные ранее исследования показали, что растения-нокауты, лишенные *RBOHC*, демонстрируют снижение накопления неэссенциальных тяжелых металлов, а также металлов, относящихся к макро- и микроэлементам [36]. Утрата функциональных RBOHC, D и F была способна модифицировать транскрипцию пере-

носчиков тяжелых металлов NRAMP3, NRAMP6 и IRT1, а также K⁺-каналов GORK [36]. Это указывает на то, что воздействие на RBOHC может являться детерминирующим фактором как для токсичности никеля, так и для адаптации к высоким уровням этого металла в среде. Экспрессия *GRI* – маркер окислительного стресса, вызываемого некоторыми тяжелыми металлами, а также изменения общего баланса между произведенными и детоксицированными АФК в клетке [37, 38]. Считается, что активация *GRI* при стрессе, вызываемом тяжелыми металлами, может быть обусловлена необходимостью усиленного синтеза протекторных молекул-хелаторов, таких как γ-глутамилцистеин и фитохелатины, из восстановленного глутатиона [39, 40]. В представленной работе впервые показано, что экспрессия *GRI* возрастает при никелевом стрессе, указывая на то, что данное стрессовое воздействие индуцирует схожие с другими тяжелыми металлами и окислителями свойства.

Заключение. Проблема загрязнения никелем почв и токсического влияния этого металла на растения отличается высокой актуальностью. На данном этапе важно понимание реакций растения на избыток никеля на клеточном и молекулярном уровне. В настоящей работе показано, что сублетальные токсические концентрации Ni²⁺ влияют на экспрессию ключевых генов, вовлеченных в АФК-метаболизм, поддержание ионного баланса, Ca²⁺-сигнализации, регуляции клеточного цикла и пролиферации. Обнаружено многократное возрастание относительной экспрессии генов *GRI*, *RBOHC*, *CPK6*, *CAT2* и *GORK1* на фоне 0,3–2 ммол/л Ni²⁺. В случае генов *PARPI*, *CYCB2* и *CSD2* уровень транскриптов повышался при низких и снижался при высоких уровнях Ni²⁺, что указывает на отличие в стратегиях адаптации генетической экспрессии на фоне разных по токсичности уровней Ni²⁺ в среде. Впервые продемонстрировано, что добавление Гис совместно с Ni²⁺ предотвращает Ni²⁺-индуцируемые перестройки экспрессии генов стрессового ответа. Наиболее чувствительной к присутствию Гис была экспрессия генов *RBOHC*, *GRI* и *CPK6*. Сделано предположение, что эффект Гис способствует более эффективной настройке адаптивных процессов и высвобождению энергии, позволяющей восстановить рост и развитие растительного организма.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Благодарности. Работа была выполнена в рамках заданий БРФФИ (№ Б25КИ-086 «Установление механизмов снижения токсичности тяжелых металлов в высших растениях под действием квантовых точек, содержащих микроэлементы» (совместно с КНР) и Б24-060-1 «Роль транспортеров малата в устойчивости высших растений к высоким уровням тяжелых металлов и алюминия в среде»); ГПНИ «Исследование мембранных механизмов модификации ростовых, сигнальных и транспортных процессов в клетках корня при взаимодействии высших растений с редокс-активными тяжелыми металлами» (№ госрегистрации 20241163); подпрограммы «Молекулярные и клеточные биотехнологии-2» государственной программы научных исследований «Биотехнологии-2» на 2021–2025 гг., а также гранта Европейского Союза «Адаптация растений к тяжелым металлам и радиоактивному загрязнению» (PIRES-GA-2013-612587).

Acknowledgements. This work was supported by projects of the BRFFR (No. B25KI-086 “Establishment of mechanisms for reducing the toxicity of heavy metals in higher plants under the influence of quantum dots containing trace elements” (joint with China) and B24-060-1 “The role of malate transporters in the resistance of higher plants to high levels of heavy metals and aluminum in the environment”), and also supported by the State Scientific Research Institute “Study of membrane mechanisms of modification of growth, signaling and transport processes in root cells during interaction of higher plants with redox-active heavy metals” (state registration No. 20241163), subprogram “Molecular and Cellular Biotechnologies 2” of the state research program “Biotechnologies 2” for 2021–2025. This work was also supported by the grant EU PIRSES-GA-2013-612587 (“Plant DNA tolerance – Plant adaptation to heavy metal and radioactive pollution”).

Список использованных источников

1. Bergmann, W. Nutritional Disorders of Plants: Development, Visual and Analytical Diagnosis / W. Bergman. – Stuttgart: Gustav Fischer Verlag, 1992. – 741 p.
2. Nagajyoti, P. C. Heavy metals, occurrence and toxicity for plants: a review / P. C. Nagajyoti, K. D. Lee, T. V. M. Sreekanth // Environmental Chemistry Letters. – 2010. – Vol. 8, N 3. – P. 199–216. <https://doi.org/10.1007/s10311-010-0297-8>
3. Barker, A. V. Handbook of Plant Nutrition / A. V. Barker, D. J. Pilbeam. – 2nd ed. – Boca Raton: CRC Press, 2015. – 773 p.
4. Nickel; whether toxic or essential for plants and environment – A review / B. Shahzad, M. Tanveer, A. Rehman [et al.] // Plant Physiology and Biochemistry. – 2018. – Vol. 132. – P. 641–651. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2018.10.014>

5. Dalir, N. Root uptake and translocation of nickel in wheat as affected by histidine / N. Dalir, A. H. Khoshgoftarmanesh // Journal of Plant Physiology. – 2015. – Vol. 184. – P. 8–14. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2015.05.017>
6. Мацкевич, В. С. Механизм трансмембранных и дальнего транспорта никеля в высших растениях / В. С. Мацкевич, В. В. Демидчик // Экспериментальная биология и биотехнология. – 2023. – № 2. – С. 4–29.
7. Welch, R. M. Breeding for micronutrients in staple food crops from a human nutrition perspective / R. M. Welch, R. D. Graham // Journal of Experimental Botany. – 2004. – Vol. 55, N 396. – P. 353–364. <https://doi.org/10.1093/jxb/erh064>
8. Состояние природной среды Беларусь: экологич. бюл. / Е. И. Громадская, Д. В. Цубленок, М. В. Водейко [и др.]; под общ. ред. Е. И. Громадской. – Мин.: РУП «ЦНИИКИВР», 2024. – 196 с.
9. Состояние природной среды Беларусь: экол. бюл. 2013 г. / под ред. В. Ф. Логинова. – Мин.: Ин-т природопользования Нац. акад. наук Беларусь, 2014. – 361 с.
10. Толкач, Г. В. Содержание химических элементов в почвах на территории фермерских (крестьянских) хозяйств Брестского района / Г. В. Толкач, С. С. Позняк // Экологический вестник. – 2015. – № 3. – С. 79–88.
11. Состояние природной среды Беларусь: экол. бюл. / Е. И. Громадская, Д. В. Цубленок, М. В. Водейко [и др.]; под общ. ред. Е. И. Громадской. – Мин.: ЦНИИКИВР, 2023. – 151 с.
12. Национальная система мониторинга окружающей среды в Республике Беларусь: результаты наблюдений, 2021 год / под общ. ред. М. И. Лемутовой. – Мин.: Респ. центр по гидрометеорологии, контролю радиоактив. загрязнения и мониторингу окружающей среды, 2022. – 556 с.
13. Marschner, H. Mineral Nutrition of Higher Plants. / H. Marschner; ed. P. Marschner. – 3rd ed. – London: Academic Press, 2012. – 684 p.
14. Alfallahi, A. O. Nanonutrients: Plant Nutritive and Possible Antioxidant Regulators / A. O. Alfallahi, F. W. Abdulqahar // Nanobiotechnology / eds.: J. M. Al-Khayri, M. I. Ansari, A. K. Singh. – Cham, 2021. – Ch. 21. – P. 471–498. https://doi.org/10.1007/978-3-030-73606-4_21
15. Hanikenne, M. Metal hyperaccumulation and hypertolerance: a model for plant evolutionary genomics / M. Hanikenne, C. Nouet // Current Opinion in Plant Biology. – 2011. – Vol. 14, N 3. – P. 252–259. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2011.04.003>
16. Nickel in Soils and Plants / eds.: C. Tsadilas, J. Rinklebe, M. Selim. – Boca Raton: CRC Press, 2018. – 432 p.
17. Ингибирование ростовых процессов и индукция запрограммированной клеточной гибели в корне *Helianthus annuus* L. под действием ионов никеля и никель-гистидиновых комплексов / В. С. Мацкевич, А. А. Шикер, С. Н. Звонарев [и др.] // Журнал Белорусского государственного университета. Биология. – 2020. – № 1. – С. 11–19.
18. L-histidine makes Ni²⁺ ‘visible’ for plant signalling systems: Shading the light on Ni²⁺-induced Ca²⁺ and redox signalling in plants / V. Mackievič, Y. Li, P. Hryvusevich [et al.] // Plant Physiology and Biochemistry. – 2025. – Vol. 220. – Art. 109227. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2024.109227>
19. Physiological, biochemical and transcriptomic responses of *Medicago sativa* to nickel exposure / S. Helaoui, I. Bougattas, S. Hattab [et al.] // Chemosphere. – 2020. – Vol. 249. – Art. 126121. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126121>
20. Transient influx of nickel in root mitochondria modulates organic acid and reactive oxygen species production in nickel hyperaccumulator *Alyssum murale* / B. Agrawal, K. J. Czymbek, D. L. Sparks, H. P. Bais // Journal of Biological Chemistry. – 2013. – Vol. 288, N 10. – P. 7351–7362. <https://doi.org/10.1074/jbc.m112.406645>
21. Yemets, A. Cadmium, nickel, copper, and zinc influence on microfilament organization in *Arabidopsis* root cells / A. Yemets, I. Horunova, Y. Blume // Cell Biology International. – 2021. – Vol. 45, N 1. – P. 211–226. <https://doi.org/10.1002/cbin.11485>
22. Nickel Toxicity Targets Cell Wall-Related Processes and PIN2-Mediated Auxin Transport to Inhibit Root Elongation and Gravitropic Responses in *Arabidopsis* / A. Lešková, M. Zvarík, T. Araya, R. F. H. Giehl // Plant Cell Physiology. – 2020. – Vol. 61, N 3. – P. 519–535. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcz217>
23. Genome-wide identification and testing of superior reference genes for transcript normalization in *Arabidopsis* / T. Czechowski, M. Stitt, T. Altmann [et al.] // Plant Physiology. – 2005. – Vol. 139, N 1. – P. 5–17. <https://doi.org/10.1104/pp.105.063743>
24. The combined effect of uranium and gamma radiation on biological responses and oxidative stress induced in *Arabidopsis thaliana* / N. Vanhoudt, H. Vandenhove, N. Horemans [et al.] // Journal of Environmental Radioactivity. – 2010. – Vol. 101, N 11. – P. 923–930. <https://doi.org/10.1016/j.jenvrad.2010.06.008>
25. Differential innate immune signalling via Ca²⁺ sensor protein kinases / M. Boudsocq, M. R. Willmann, M. McCormack [et al.] // Nature. – 2010. – Vol. 464, N 7287. – P. 418–422. <https://doi.org/10.1038/nature08794>
26. Seregin, I. V. Physiological role of nickel and its toxic effects on higher plants / I. V. Seregin, A. D. Kozhevnikova // Russian Journal of Plant Physiology. – 2006. – Vol. 53, N 2. – P. 257–277. <https://doi.org/10.1134/s1021443706020178>
27. A Comprehensive Review on the Heavy Metal Toxicity and Sequestration in Plants / R. Riyazuddin, N. Nisha, B. Ejaz [et al.] // Biomolecules. – 2022. – Vol. 12, N 1. – Art. 43. <https://doi.org/10.3390/biom12010043>
28. Histidine as a metal chelator in plants that accumulate nickel / U. Krämer, J. D. Cotter-Howells, J. M. Charnock [et al.] // Nature. – 1996. – Vol. 379, N 6566. – P. 635–638. <https://doi.org/10.1038/379635a0>
29. Constitutively High Expression of the Histidine Biosynthetic Pathway Contributes to Nickel Tolerance in Hyperaccumulator Plants / R. A. Ingle, S. T. Mugford, J. D. Rees [et al.] // Plant Cell. – 2005. – Vol. 17, N 7. – P. 2089–2106. <https://doi.org/10.1105/tpc.104.030577>
30. Demidchik, V. Mechanisms of oxidative stress in plants: From classical chemistry to cell biology / V. Demidchik // Environmental and Experimental Botany. – 2015. – Vol. 109. – P. 212–228. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2014.06.021>

31. Reactive oxygen species produced by NADPH oxidase regulate plant cell growth / J. Foreman, V. Demidchik, J. H. F. Bothwell [et al.] // *Nature*. – 2003. – Vol. 422, N 6930. – P. 442–446. <https://doi.org/10.1038/nature01485>
32. Stress-induced electrolyte leakage: the role of K⁺-permeable channels and involvement in programmed cell death and metabolic adjustment / V. Demidchik, D. Straltsova, S. S. Medvedev [et al.] // *Journal of Experimental Botany*. – 2014. – Vol. 65, N 5. – P. 1259–1270. <https://doi.org/10.1093/jxb/eru004>
33. Arabidopsis calcium-dependent protein kinase CPK6 regulates drought tolerance under high nitrogen by the phosphorylation of NRT1.1 / Q. Ma, Ch. Zhao, Sh. Hu, K. Zuo // *Journal of Experimental Botany*. – Vol. 74, N 18. – P. 5682–5693. <https://doi.org/10.1093/jxb/erad277>
34. Evidence of a significant role of glutathione reductase in the sulfur assimilation pathway / A. Cohen, Y. Hacham, Y. Welfe [et al.] // *The Plant Journal*. – 2020. – Vol. 102, N 2. – P. 246–261. <https://doi.org/10.1111/tpj.14621>
35. Cell cycle function of a rice B2-type cyclin interacting with a B-type cyclin-dependent kinase / J. Lee, A. Das, M. Yamaguchi [et al.] // *The Plant Journal*. – 2003. – Vol. 34, N 4. – P. 417–425. <https://doi.org/10.1046/j.1365-313x.2003.01736.x>
36. The role of NADPH oxidases in regulating leaf gas exchange and ion homeostasis in *Arabidopsis* plants under cadmium stress / C. Hafsi, A. M. Collado-Arenal, H. Wang [et al.] // *Journal of Hazardous Materials*. – 2022. – Vol. 429. – Art. 128217. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2022.128217>
37. Glutathione Is a Key Player in Metal-Induced Oxidative Stress Defenses / M. Jozefczak, T. Remans, J. Vangronsveld, A. Cuypers // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2012. – Vol. 13, N 3. – P. 3145–3175. <https://doi.org/10.3390/ijms13033145>
38. *Arabidopsis* GLUTATHIONE REDUCTASE1 Plays a Crucial Role in Leaf Responses to Intracellular Hydrogen Peroxide and in Ensuring Appropriate Gene Expression through Both Salicylic Acid and Jasmonic Acid Signaling Pathways / A. Mhamdi, J. Hager, S. Chaouch [et al.] // *Plant Physiology*. – 2010. – Vol. 153, N 3. – P. 1144–1160. <https://doi.org/10.1104/pp.110.153767>
39. Grill, E. Phytochelatins: The Principal Heavy-Metal Complexing Peptides of Higher Plants / E. Grill, E.-L. Winnacker, M. H. Zenk // *Science*. – 1985. – Vol. 230, N 4726. – P. 674–676. <https://doi.org/10.1126/science.230.4726.674>
40. Chen, J. Characterization of phytochelatin synthase from tomato / J. Chen, J. Zhou, P. B. Goldsborough // *Physiologia Plantarum*. – 1997. – Vol. 101, N 1. – P. 165–172. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1997.tb01833.x>

References

1. Bergmann W. *Nutritional Disorders of Plants: Development, Visual and Analytical Diagnosis*. Stuttgart, Gustav Fischer Verlag, 1992. 741 p.
2. Nagajyoti P. C., Lee K. D., Sreekanth T. V. M. Heavy metals, occurrence and toxicity for plants: a review. *Environmental Chemistry Letters*, 2010, vol. 8, no. 3, pp. 199–216. <http://doi.org/10.1007/s10311-010-0297-8>
3. Barker A. V., Pilbeam D. J. *Handbook of Plant Nutrition*. 2nd ed. Boca Raton, CRC Press, 2015. 773 p.
4. Shahzad B., Tanveer M., Rehman A., Cheema S. A., Fahad S., Rehman S., Sharma A. Nickel; whether toxic or essential for plants and environment – A review. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2018, vol. 132, pp. 641–651. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2018.10.014>
5. Dalir N., Khoshgoftaranesh A. H. Root uptake and translocation of nickel in wheat as affected by histidine. *Journal of Plant Physiology*, 2015, vol. 184, pp. 8–14. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2015.05.017>
6. Matskevich V. S., Demidchik V. V. Mechanism of transmembrane and long-distance transport of nickel in higher plants. *Eksperimental'naya biologiya i biotekhnologiya* [Experimental Biology and Biotechnology], 2023, no. 2, pp. 4–29 (in Russian).
7. Welch R. M., Graham R. D. Breeding for micronutrients in staple food crops from a human nutrition perspective. *Journal of Experimental Botany*, 2004, vol. 55, no. 396, pp. 353–364. <https://doi.org/10.1093/jxb/erh064>
8. Gromadskaya E. I., Tsubenok D. V., Vodeiko M. V., Buko I. Yu., Khomich V. S., Zhivnach S. G., Struk M. I. *State of the natural environment of Belarus: ecological bulletin*. Minsk, RUE “TsNIKIVR”, 2024. 196 p. (in Russian).
9. Loginov V. F. (ed.). *State of the natural environment of Belarus: ecological bulletin*. 2013. Minsk, Institute of Nature Management of the National Academy of Sciences of Belarus, 2014. 361 p. (in Russian).
10. Tolkach G. V., Poznyak S. S. Contents of chemical elements in soil in the farms of Brest region. *Ekologicheskii vestnik* [Ecological Bulletin], 2015, no. 3, pp. 79–88 (in Russian).
11. Gromadskaya E. I., Tsubenok D. V., Vodeiko M. V., Khomich V. S., Zhivnach S. G., Struk M. I. *State of the natural environment of Belarus: ecological bulletin*. Minsk, Central research institute for integrated use of water resources, 2023. 151 p. (in Russian).
12. Lemutova M. I. (ed.). *National environmental monitoring system in the Republic of Belarus: observation results*, 2021. Minsk, Belhydromet, 2022. 556 p. (in Russian).
13. Marschner H. *Mineral nutrition of higher plants*. 3rd ed. London, Academic Press, 2012. 684 p.
14. Alfallah A. O., Abdulqahar F. W. Nanonutrients: Plant Nutritive and Possible Antioxidant Regulators. *Nanobiotechnology*, Cham, 2021, ch. 21, pp. 471–498. https://doi.org/10.1007/978-3-030-73606-4_21
15. Hanikenne M., Nouet C. Metal hyperaccumulation and hypertolerance: a model for plant evolutionary genomics. *Current Opinion in Plant Biology*, 2011, vol. 14, no. 3, pp. 252–259. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2011.04.003>
16. Tsadilas C., Rinklebe J., Selim M. (eds.). *Nickel in Soils and Plants*. Boca Raton, CRC Press, 2018. 432 p. <https://doi.org/10.1201/9781315154664>

17. Matskevich V. S., Shiker A. A., Zvonarev S. N., Litskevich K. S., Turovets O. A., Smolich, I. I., Sokolik A. I., Demidchik V. V. Growth inhibition and induction of programmed cell death in the root of *Helianthus annuus* L. triggered by nickel ions and nickel-histidine complexes. *Zhurnal Belorusskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya* [Journal of the Belarusian State University. Biology], 2020, no. 1, pp. 11–19 (in Russian).
18. Mackieiev V., Li Y., Hryvusevich P., Svistunenko D., Seregin I., Kozhevnikova A., Kartashov A. [et al.]. L-histidine makes Ni²⁺ ‘visible’ for plant signalling systems: Shading the light on Ni²⁺-induced Ca²⁺ and redox signalling in plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2025, vol. 220, art. 109227. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2024.109227>
19. Helaoui S., Bougattas I., Hattab S., Mkhinini M., Alphonse V., Livet A., Bousserrhine N., Banni M. Physiological, biochemical and transcriptomic responses of *Medicago sativa* to nickel exposure. *Chemosphere*, 2020, vol. 249, art. 126121. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126121>
20. Agrawal B., Czymbek K. J., Sparks D. L., Bais H. P. Transient Influx of Nickel in Root Mitochondria Modulates Organic Acid and Reactive Oxygen Species Production in Nickel Hyperaccumulator *Alyssum murale*. *Journal of Biological Chemistry*, 2013, vol. 288, no. 10, pp. 7351–7362. <https://doi.org/10.1074/jbc.M112.406645>
21. Yemets A., Horiunova I., Blume Y. Cadmium, nickel, copper, and zinc influence on microfilament organization in *Arabidopsis* root cells. *Cell Biology International*, 2021, vol. 45, no. 1, pp. 211–226. <https://doi.org/10.1002/cbin.11485>
22. Lešková A., Zvarík M., Araya T., Giehl R. F. H. Nickel Toxicity Targets Cell Wall-Related Processes and PIN2-Mediated Auxin Transport to Inhibit Root Elongation and Gravitropic Responses in *Arabidopsis*. *Plant Cell Physiology*, 2020, vol. 61, no. 3, pp. 519–535. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcz217>
23. Czechowski T., Stitt M., Altmann T., Udvardi M. K., Scheible W. R. Genome-wide identification and testing of superior reference genes for transcript normalization in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, 2005, vol. 139, no. 1, pp. 5–17. <https://doi.org/10.1104/pp.105.063743>
24. Vanhoudt N., Vandenhove H., Horemans N., Wannijn J., Van Hees M., Vangronsveld J., Cuypers A. The combined effect of uranium and gamma radiation on biological responses and oxidative stress induced in *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Environmental Radioactivity*, 2010, vol. 101, no. 11, pp. 923–30. <https://doi.org/10.1016/j.jenvrad.2010.06.008>
25. Boudsocq M., Willmann M. R., McCormack M., Lee H., Shan L., He P., Bush J., Cheng Sh.-H., Sheen J. Differential innate immune signalling via Ca²⁺ sensor protein kinases. *Nature*, 2010, vol. 464, no. 7287, pp. 418–22. <https://doi.org/10.1038/nature08794>
26. Seregin I. V., Kozhevnikova A. D. Physiological role of nickel and its toxic effects on higher plants. *Russian Journal of Plant Physiology*, 2006, vol. 53, no. 2, pp. 257–277. <https://doi.org/10.1134/S1021443706020178>
27. Riyazuddin R., Nisha N., Ejaz B., Khan M. I. R., Kumar M., Ramteke P. W., Gupta R. A comprehensive review on the heavy metal toxicity and sequestration in plants. *Biomolecules*, 2021, vol. 12, no. 1, art. 43. <https://doi.org/10.3390/biom12010043>
28. Krämer U., Cotter-Howells J. D., Charnock J. M., Baker A. J. M., Smith J. A. C. Histidine as a metal chelator in plants that accumulate nickel. *Nature*, 1996, vol. 379, no. 6566, pp. 635–638. <https://doi.org/10.1038/379635a0>
29. Ingle R. A., Mugford S. T., Rees J. D., Campbell M. M., Smith J. A. C. Constitutively High Expression of the Histidine Biosynthetic Pathway Contributes to Nickel Tolerance in Hyperaccumulator Plants. *Plant Cell*, 2005, vol. 17, no. 7, pp. 2089–2106. <https://doi.org/10.1105/tpc.104.030577>
30. Demidchik, V. Mechanisms of oxidative stress in plants: From classical chemistry to cell biology. *Environmental and Experimental Botany*, 2015, vol. 109, pp. 212–228. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2014.06.021>
31. Foreman J., Demidchik V., Bothwell J. H. F., Mylona P., Miedema H., Torres M. A., Linstead P., Costa S., Brownlee C., Jones J. D. G., Davies J. M., Dolan L. Reactive oxygen species produced by NADPH oxidase regulate plant cell growth. *Nature*, 2003, vol. 422, no. 6930, pp. 442–446. <https://doi.org/10.1038/nature01485>
32. Demidchik V., Straltsova D., Medvedev S. S., Pozhvanov G. A., Sokolik A., Yurin V. Stress-induced electrolyte leakage: the role of K⁺-permeable channels and involvement in programmed cell death and metabolic adjustment. *Journal of Experimental Botany*, 2014, vol. 65, no. 5, pp. 1259–1270. <https://doi.org/10.1093/jxb/eru004>
33. Ma Q., Zhao Ch., Hu Sh., Zuo K. Arabidopsis calcium-dependent protein kinase CPK6 regulates drought tolerance under high nitrogen by the phosphorylation of NRT1.1. *Journal of Experimental Botany*, 2023, vol. 74, no. 18, pp. 5682–5693. <https://doi.org/10.1093/jxb/erad277>
34. Cohen A., Hacham Y., Welfe Y., Khatib S., Aviye J.-Ch., Amir R. Evidence of a significant role of glutathione reductase in the sulfur assimilation pathway. *The Plant Journal*, 2020, vol. 102, no. 2, pp. 246–261. <https://doi.org/10.1111/tpj.14621>
35. Lee J., Das A., Yamaguchi M., Hashimoto J., Tsutsumi N., Uchimiya H., Umeda M. Cell cycle function of a rice B2-type cyclin interacting with a B-type cyclin-dependent kinase. *The Plant Journal*, 2003, vol. 34, no. 4, pp. 417–425. <https://doi.org/10.1046/j.1365-313x.2003.01736.x>
36. Hafsi C., Collado-Arenal A. M., Wang H., Sanz-Fernández M., Sahrawy M., Shabala S., Romero-Puertas M. C., Sandalio L. M. The role of NADPH oxidases in regulating leaf gas exchange and ion homeostasis in *Arabidopsis* plants under cadmium stress. *Journal of Hazardous Materials*, 2022, vol. 429, art. 128217. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2022.128217>
37. Jozefczak M., Remans T., Vangronsveld J., Cuypers A. Glutathione Is a Key Player in Metal-Induced Oxidative Stress Defenses. *International Journal of Molecular Sciences*, 2012, vol. 13, no. 3, pp. 3145–3175. <https://doi.org/10.3390/ijms13033145>

38. Mhamdi A., Hager J., Chaouch S., Queval G., Han Y., Taconnat L., Saindrenan P., Gouia H., Issakidis-Bourguet E., Renou J. P., Noctor G. *Arabidopsis GLUTATHIONE REDUCTASE1 Plays a Crucial Role in Leaf Responses to Intracellular Hydrogen Peroxide and in Ensuring Appropriate Gene Expression through Both Salicylic Acid and Jasmonic Acid Signaling Pathways*. *Plant Physiology*, 2010, vol. 153, no. 3, pp. 1144–1160. <https://doi.org/10.1104/pp.110.153767>
39. Grill E., Winnacker E.-L., Zenk M. H. Phytochelatins: the principal heavy-metal complexing peptides of higher plants. *Science*, 1985, vol. 230, no. 4726, pp. 674–676. <https://doi.org/10.1126/science.230.4726.674>
40. Chen J., Zhou J., Goldsbrough P. B. Characterization of phytochelatin synthase from tomato. *Physiologia Plantarum*, 1997, vol. 101, no. 1, pp. 165–172. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1997.tb01833.x>

Інформація об авторах

Маккевіч Віра Сергіївна – старший преподаватель, науч. сотрудник. Белорусский государственный университет (пр. Независимости, 4, 220030, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: mackievic@bsu.by. <https://orcid.org/0000-0002-5116-0157>

Демідчик Вадим Вікторович – член-корреспондент, д-р бiol. наук, профессор, гл. науч. сотрудник. Институт экспериментальной ботаники им. В. Ф. Купревича НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: demidchik@botany.by. <https://orcid.org/0000-0003-3765-8386>

Information about the authors

Viera S. Mackievic – Senior Lecturer, Researcher. Belarusian State University (4, Nezavisimosti Ave., 220030, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: mackievic@bsu.by. <https://orcid.org/0000-0002-5116-0157>

Vadim V. Demidchik – Corresponding Member, D. Sc. (Biol.), Professor, Chief Researcher. V. F. Kuprevich Institute of Experimental Botany of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: demidchik@botany.by. <https://orcid.org/0000-0003-3765-8386>